

EUROPEAN PATENT OFFICE

Patent Abstracts of Japan

PUBLICATION NUMBER : 60054398
PUBLICATION DATE : 28-03-85

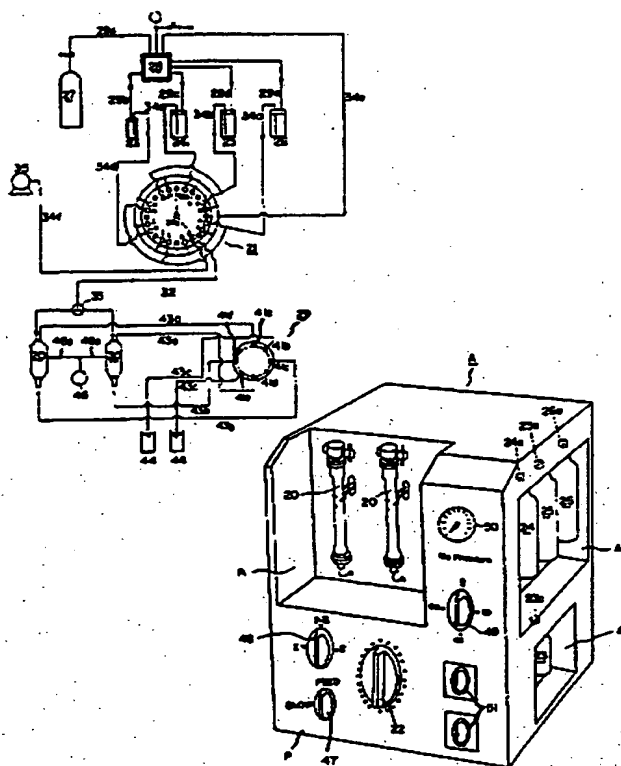
APPLICATION DATE : 02-09-83
APPLICATION NUMBER : 58161637

APPLICANT : NIPPON ZEON CO LTD;

INVENTOR : MIYAMOTO SHIGEMI;

INT.CL. : C07H 21/04

TITLE : POLYNUCLEOTIDE SYNTHESIZER



ABSTRACT : **PURPOSE:** The titled synthesizer that has a plurality of ports on the inlet side, connecting the reactors to reagent bottles and solvent bottles and common ports on the outlet side, connecting to the reactors, thus being provided with switching valve and feed means for solutions and solvents and simple, free from malfunctioning and inexpensive.

CONSTITUTION: The synthesizer is provided with a plurality of reagent and solvent ports 30a, 30c, on the inlet side, connecting the reactor 20 to reagent bottles 23, 24 filled with reagents required for nucleotide synthesis and solvent bottles 25, 25 and common ports 30b, 30d on the outlet side, connecting to the reactor. The paths connecting the reactor to individual reagent and solvent bottles are switched by operating the valve 21 with finger grip 22 to feed these reagents and solvents to the reactor 20. The reagent ports and solvent ports are arranged in the order of operations and one step of condensation reaction completes, when the finger grip 22 is turned around, this step is repeated to synthesize polynucleotide.

COPYRIGHT: (C)1985,JPO&Japio

THIS PAGE BLANK (USPTO)

⑩ 日本国特許庁(JP) ⑪ 特許出願公開
⑫ 公開特許公報(A) 昭60-54398

⑬ Int.Cl.⁴
C 07 H 21/04

識別記号 庁内整理番号
7252-4C

⑭ 公開 昭和60年(1985)3月28日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全17頁)

⑮ 発明の名称 ポリヌクレオチド合成装置

⑯ 特 願 昭58-161637

⑰ 出 願 昭58(1983)9月2日

⑱ 発 明 者 新 名 昭 彦 川崎市川崎区夜光1-2-1 日本ゼオン株式会社技術開
発センター内
⑱ 発 明 者 大 平 龍 夫 東京都千代田区丸の内2丁目6番1号 日本ゼオン株式会
社内
⑱ 発 明 者 宮 本 茂 実 川崎市川崎区夜光1-2-1 日本ゼオン株式会社技術開
発センター内
⑲ 出 願 人 日本ゼオン株式会社 東京都千代田区丸の内2丁目6番1号
⑲ 代 理 人 弁理士 滝野 秀雄 外1名

明 細 書

1. 発明の名称

ポリヌクレオチド合成装置

2. 特許請求の範囲

反応器と、ポリヌクレオチド合成反応に必要な試薬、溶剤等が充満された試薬ビン、溶剤ビンと、入口側に該試薬ビン、溶剤ビンと接続される複数の試薬、溶剤ポートを有し、出口側に該反応器に接続される共通ポートを有して、各試薬ビン、溶剤ビンと反応器とを接続する流路を一個の操作ツマミを回転操作することにより切換える切換弁と、不活性ガスの圧力により各試薬ビン、溶剤ビンから試薬、溶剤等を反応器に送り込む給液手段とを具備し、かつ前記試薬、溶剤ポートを給液操作順に配置して、前記操作ツマミを一回転させたとき一つの縮合工程における給排液操作が完了するように構成してなることを特徴とするポリヌクレオチド合成装置。

3. 発明の詳細な説明

本発明はポリヌクレオチド合成装置に関する。

ポリヌクレオチド、例えばDNA(デオキシリボ核酸)を合成する方法として、ヌクレオチドを化学結合させたサポートを使用し、リン酸トリエステル法、リン酸ジエステル法、フォスファイト法などにより順次ヌクレオチドを縮合して行く方法が知られている。この合成方法では、洗浄→脱保護→洗浄→縮合反応→洗浄等の工程を繰り返すもので、工程の種類は多くないが、繰り返し操作が多く煩雑である。

近年、合成操作の煩わしさを解消する目的で種々のDNA合成装置が提案されている。

例えば、装置本体に、反応器と、ポリヌクレオチド合成反応に必要な試薬、溶剤等が充満された試薬ビン、溶剤ビンを装備し、かつ各試薬ビン、溶剤ビンと反応器とを接続する流路にそれぞれコックを設けて、廃棄ガスの圧力を利用し、各コックを開閉操作して試薬ビン、溶剤ビンから反応器に試薬、溶剤等を順次送り込み、洗浄→脱保護→洗浄等を繰り返すように構成したものが知られている。

しかしながら、上記装置では、多数のコックがあり、誤操作するおそれがあった。このような誤操作すると、初めからやり直さなければならず、それまでの作業が全て無駄となることがあった。また、自動化する場合には、コックを電磁弁で置き換えることが考えられるが、多数の電磁弁を使用するためコスト高となる上に、制御が複雑となる等の問題があった。

本発明人は上記問題を解決するため、第1図に示すような装置を提案した(特願昭58-126249号)。図中符号1は真空ポンプ、2はディストリビューター、3a~3iは真空ガスの流路、4, 5, 6, 8は試薬ビン、7, 9は溶剤ビン、10は八方切換弁、11b~11gは試薬、溶剤の流路、12は二方コック、13は三方コック、14a~14hは試薬、溶剤、真空ガスの流路、15は八方コック、16は反応器、17は廃液タンクである。

上記装置によれば、例えば、八方切換弁10に設けた操作ツマミ(図示せず)により共通ポート

10hをポート10bに合わせると、試薬ビン4が反応器16, 16と接続される。すると、真空ポンプ1からディストリビューター2、流路3bを通過して試薬ビン4に送られたN₂ガスの圧力により、試薬ビン4から流路11b、ポート10b、共通ポート10h、二方コック12、三方コック13、流路14a, 14bを通過して試薬(不活性化剤)が反応器16, 16にそれぞれ送り込まれる。このとき、八方コック15は実線位置、すなわちP E B Dにしておく。

また、操作ツマミにより共通ポート10hをポート10cに合わせると、試薬ビン5が反応器16, 16と接続され、同様にN₂ガスの圧力により試薬ビン5から試薬(縮合剤/溶剤II溶液)が反応器16, 16に送り込まれる。さらに、共通ポート10hをポート10dに合わせると試薬ビン6から試薬(不活性化助剤/溶剤II溶液)が、またポート10eに合わせると溶剤ビン7から溶剤Iが、またポート10fに合わせると試薬ビン8から試薬(脱保護剤/溶剤I)が、またポート

10gに合わせると溶剤ビン9から溶剤IIがそれぞれ反応器16, 16に送り込まれる。

なお、反応器16, 16から排液するには、八方コック15を点線位置、すなわちB L O Wにして、コック16a, 16aを開く。

上述のように、一個の装置ツマミによって流路11b~11gを切換えることができ、各流路に設けた多数のコックを開閉操作する従来の装置に比して誤操作を少なくすることができると共に、自動化も容易に行なえる。

しかし、一つの縮合工程において八方切換弁10の動作をみると、共通ポート10hを、ポート10g→10d→10b→10g→10e→10f→10e→10g→10cの順に切換えるようになっている(なお、ポート10b~10gを切換えるとき一旦ポート10aに切換えてから行なう)。すなわち、八方切換弁10(ツマミ)の正転、反転を繰り返す必要があり、しかもポート10b→10gに切換えるときには二つのポート10c, 10dを通り越し、またポート10g→1

0eに切換えるときには一つのポート10fを通り越す。

このため、八方切換弁10を動作するモータの制御が複雑となる問題があった。

本発明は上記事情に鑑みてなされたもので、その目的とするところは、誤操作を少なくすることができると共に、自動化に際し制御が簡単に行なえるポリスクレオチド合成装置を提供することである。

すなわち、本発明は、反応器と、ポリスクレオチド合成反応に必要な試薬、溶剤等が充填された試薬ビン、溶剤ビンと、入口側に該試薬ビン、溶剤ビンと接続される複数の試薬、溶剤ポートを有し、出口側に該反応器に接続される共通ポートを有して、各試薬ビン、溶剤ビンと反応器とを接続する流路を操作ツマミを回転操作することにより切換える切換弁と、不活性ガスの圧力により各試薬ビン、溶剤ビンから試薬、溶剤等を反応器に送り込む給液手段とを具備し、かつ前記入口側の複数の試薬、溶剤ポートを給液操作順に配置して、

前記操作ツマミを一回転させるとき一つの縮合工程における給排液操作が完了するように構成してなることを特徴としている。

したがって、本発明によれば、従来の装置のような煩雑な操作を更に少なくすることができ、しかも自動化に際して切換弁の制御が簡単に行なえる。

以下、本発明の実施例を図面を参照して説明する。

第2図は本発明の合成装置の一例を示す全体斜視図、第3図は同合成装置のフローシートである。本実施例の合成装置によると、装置本体Aの前面パネルPの一端部側（第2図左側）の上部には凹部P₁が設けられていて、該凹部P₁内には反応器20、20が装備されている。これら反応器20、20は、第3図に示すようにシェカー46のアーム46aに支持されている。

また、前面パネルPには、第1図に示す八方切換弁10に相当する十六方切換弁21（第3図、第4図、第5図a、b参照、本発明の特徴部分）の操作ツマミ22が装備されている。

ン23～26から反応器20、20に試薬、溶剤が送られる。

試薬ビン23、24、溶剤ビン25、26と反応器20、20との間に十六方切換弁21が設けられている。

次に本発明の特徴部分であるこの十六方切換弁21を第4図及び第5図a、bを参照して詳細に説明する。

十六方切換弁21は、弁本体30と、該弁本体30に回転自在に装備された回転部31とから構成されている。

弁本体30には、入口側のポート30a～30pと出口側の共通ポート30qが配設されている。一方、回転部31の外周面には周溝31aと縦溝31bとが形成されていて、回転部31を回転させることにより、共通ポート30qが該周溝31aと縦溝31bを介してポート30a～30pに順次連通される。

共通ポート30qは、流路32と該流路32に設けた三方コック33を介して反応器20、20

装置本体Aの側面には凹部A₁、A₂が設けられていて、下方の凹部A₁には不活性化剤と不活性化助剤を充填した試薬ビン23がセットされ、また上方の凹部A₂には脱保護剤（脱トリチル剤）／溶剤I溶液を充填した試薬ビン24と溶剤Iを充填した溶剤ビン25と溶剤IIを充填した溶剤ビン26とがセットされている。

本実施例では、第1図に示す試薬ビン5（縮合剤／溶剤II溶液）が省略され、不活性化剤と不活性化助剤とは上述の如く同じ試薬ビン23内に充填されている。

また、装置本体Aの内部には、第3図に示すように、小型の窒素ボンベ27と、ディストリビューター28と、大方コック29と、前述の十六方切換弁21等が装備されている。

窒素ボンベ27のN₂ガスは、流路29aを通過してディストリビューター28に送られ、ここで分流された後、流路29b、29c、29d、29eを通過して試薬ビン23、24と溶剤ビン25、26に送られる。このN₂ガスの圧力により各ビ

の上部と接続されている。

ポート30a～30pのうち、試薬、溶剤ポート30a、30c、30e、30i、30j、30k、30m、30oは流路34a～34dを介して試薬ビン23、24、溶剤ビン25、26と接続され、またガスポート30b、30d、30f、30h、30j、30l、30n、30pは流路34eを介してディストリビューター28に接続されている。

試薬、溶剤ポート30a、30c、30e…は給液操作順に配置され、そしてこれらの間にガスポート30b、30d、30f…と給液停止部30rがそれぞれ配置されている。

したがって、回転部31を一回転させると、試薬ビン24から脱保護剤／溶剤I→N₂ガス→給液停止部…→溶剤ビン25から溶剤I→N₂ガス→給液停止の順で給液操作が行なわれる。すなわち、一つの縮合工程における給排液操作を完了することができる。

給液停止部30rは、第1図に示す二方コック

12の作用をするものであり、本発明ではこの二方コック12が省略されている。

ポート30gは、流路34fを介して真空ポンプ35と接続されている。このポート30gに切換えると、反応器20、20が真空ポンプ35に接続されて、共沸脱水を行なうことができる。

装置の自動化に際しては、回転部31にステッピングモータあるいはサーボモータを連結して、制御装置に組込んだプログラムに従ってモータをシーケンス制御する。このとき、試薬、溶剤ポート30a、30c、30e…は給液操作順に配置されているため、第1図に示す装置のようにポートを一つあるいは二つ通り越すようなことがなく、モータの制御が簡便となる。なお、ドラム式のシーケンサーを使用して一タを駆動してもよい。

上述の回転部31は、一端部側(第5図bの左側)が細径となるようにテーパ状に形成され、かつ弁本体30とこの回転部31との間には、回転部31をその一端部側に付勢するスプリング36が介在されている。したがって、弁本体30と回

転部31との間に隙間が生じるおそれがなく、各ポート30a~30pが互いに連通することなくシールされる。また、ポート30a~30pと共通ポート30qも周溝31a、縦溝31b以外で連通することなくシールされる。

また、弁本体30の一端部側には、クリック機構37が設けられている。このクリック機構37は、回転部31の一端部に固定されて弁本体30の一端面に摺接する円板38と、弁本体30の一端面に設けた孔30'内に挿入されてスプリング39の弾力力により円板38の摺接面側に付勢されるボール40とから構成されている。円板38の摺接面には、各ポート30a~30pと給液停止部30rとに対応して凹部38aが設けられていて、該凹部38aにボール40が係合することにより回転部31の位置決めがなされる。

前述の六方コック29は、第6図a、bに示すように、コック本体41と、該コック本体41に回転自在に装備された回転部42とから構成されている。

11

コック本体41にはポート41a~41fが設けられ、また回転部42には該ポート41a~41fを互いに連通させる周溝42a~42dが設けられている。

ポート41a~41fと反応器20、20との接続関係は、第3図に示すようになっている。すなわち、ポート41a、41dは流路43a、43aを介して反応器20、20の上部と接続され、またポート41c、41fは流路43b、43bを介して反応器20、20の底部と接続されている。また、ポート41b、41eは流路43c、43cを介して廃液タンク44、44と接続されている。

第3図に示す実線状態、すなわちPBEED状態では周溝42a、42cを介してポート41aと41b、ポート41dと41eが連通しており、ポート41c、41fは閉じている。回転部42を回転させて、周溝42a~42fを同図の点線位置に移動させると、周溝42a、42cを介してポート41bと41c、ポート41dと41f

12

が連通し、ポート41a、41dは閉じ、BLW状態となる。

なお、この六方コック29にもクリック機構45が設けられている。このクリック機構45は、周溝42a~42dを第3図の実線位置と点線位置に位置決めする外に、該実線位置と点線位置の中間に位置決めする。この中間の位置では、ポート41a~41fは全閉となる。

六方コック29は、第1図に示す八方コック15と反応器16、16のコック16a、16aとを兼用したものである。したがって、反応器20、20にはコックが装備されていない。この六方コック29の回転部42に十六方切換弁21の場合と同様に、ステッピングモータ等を連結して、制御装置に組込んだプログラムに従ってモータを駆動することにより、自動化することができる。

なお、前面パネルPには、六方コック29の操作ツマミ47と、三方コック33の操作ツマミ48と、シェーカー46のタイマー装置(図示せず)の操作ツマミ49と、ディストリビューター28

13

14

に接続されたN₂ガス圧力計50と、電源スイッチ51等が整備されている。

また、凹部A₁、A₂の天井部分には、詳細に図示しないが、ピン23~26の口部の取付部23a~26aが設けられている。

第7図は反応器20の拡大断面図である。同図によると、反応器本体55と、上下栓体56、57とから構成されている。

上下栓体56、57は、そのフランジ部56a、57aを反応器本体55の上下端部に設けられたフランジ部55a、55bにクリップ等の固定手段で固定することにより反応器本体55に取付けられる。

反応器本体55はガラスからなり、その上下開口部内に端部55c、55dが形成されていて、これら端部55c、55dに当接するまで上下栓体56、57の栓部56b、57bが嵌挿されている。

上下栓体56、57は前述の試薬、溶剤等と反応せず、かつ弾性変形可能な材料、例えばフロロ

シリコンゴム、フッ素ゴム、六フッ化プロピレン-四フッ化エチレン共重合体等から形成されている。

栓部56b、57bの外径は、上下開口部の内径よりも若干大きく設定されていて、栓部56a、57aの外面が上下開口部の内面に密着して気密及び水密性が保持されている。

上栓体56には、原料を注入するためのコック58が設けられている。また、第8図に示すように、流路32が接続される通路56cと流路43aが接続される通路56dがそれぞれ形成されている。

また、下栓体57には、流路43bが接続される通路57cが形成されている。

なお、栓部56b、57bに設けた周溝56' b、57' bにOリングを取付けるようにしてもよい。

次に上記合成装置を使用してDNAを合成する操作を説明する。

まず、反応器20、20にヌクレオシドを結合

15

させたサポート(シリカゲル等)を充填し、また試薬ビン23、24、溶剤ビン25、26を取付部23a~26aにセットする。そして、溶剤Iでサポートを膨潤させる。

このようにして準備操作が終了したら、脱トリチルを行なう。この脱トリチル工程(I)では、十六方切換弁21の共通ポート30qをポート30aに切換えて試薬ビン24から脱保護剤/溶剤I溶液を反応器20、20に送り込む。所定量に達したら、ポート30bに切換える。すると、N₂ガスが流路32に残っている脱保護剤/溶剤I溶液を反応器20、20に送り込む。次いで、給液停止部30rに切換える。この後、シェカー46を動作し、所定時間経過後、六方コック29をBLOWにする(第3図の点線状態)。そして、ポート30bに切換えて、N₂ガスの圧力により反応器20、20から脱保護剤/溶剤I溶液を流路43b、ポート41c、41b、41e、41f、流路43cを通して廃液タンク44、44に排液する。排液が終了したら、ポート30cに切換え、

1.7

16

六方コック29をPEEDにする(第3図の実線状態)。

次いで、溶剤Iにより洗浄を行なう。この洗浄工程(II)で、十六方切換弁21を、ポート30c→30d→30rの順に切換えて、溶剤ビン25から溶剤Iを流路32に残さずに反応器20、20に送り込む。そして、シェカー46を所定時間動作後、六方コック29をBLOWにし、次いで十六方切換弁21をポート30d→30rに切換えて、溶剤Iを排液し、その完了後に六方コック29をPEEDにする。

脱トリチル工程(I)、洗浄工程(II)は、必要により複数回繰り返してもよい。

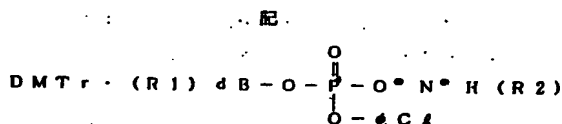
この後、溶剤IIにより洗浄を行なう。この洗浄工程(III)では、十六方切換弁21を、ポート30e→30f→30rの順に切換えて、溶剤ビン26から溶剤IIを流路32に残すことなく反応器20、20に送り込む。そして、シェカー46を所定時間動作後、六方コック29をBLOWにし、次いで十六方切換弁21をポート30f→30r

1.8

に切換えて、溶剤Ⅱの排液完了後に六方コック29をF E E Dにする。

この洗浄工程(Ⅲ)も必要により複数回繰り返してもよい。

このようにしてから、原料注入を行なう。この原料注入工程(Ⅳ)では、コック58(第7図参照)を開いて、反応器20, 20の上部から下記の構造式に示すモノマー塩を溶剤Ⅱで溶解した原料溶液を注入する。



ここで、R1は保護基(ベンゾイル基など)、R2はアルキル基であり、またBはアデニン(A)、グアニン(G)、シトシン(C)、チミン(T)等の核酸塩基である。

なお、モノマー塩の代わりにダイマー塩を使用してもよい。

19

4→30fの順に切換えて行な。操作内容は洗浄工程(Ⅲ)と同じである。

この洗浄工程(Ⅳ)も必要により複数回繰り返してもよい。

次いで、キャッピングをする。このキャッピング工程(Ⅴ)では、十六方切換弁21を、ポート30k→30d→30rの順に切換えて、試薬ビン23から不活性化剤、不活性化助剤/溶剤Ⅱ溶液を流路32に残すことと反応器20, 20に送り込む。次いで、シェカー46を所定時間動作後、六方コック29をBLOWにし、十六方切換弁21をポート30d→30rに切換えて排液する。排液完了後に六方コック29をF E E Dにする。

次いで、溶剤Ⅱで洗浄する。この洗浄工程(Ⅵ)では、十六方切換弁21を、ポート30m→30n→30rの順に切換えて行な。操作内容は洗浄工程(Ⅲ)と同じである。

次いで、溶剤Ⅰで洗浄する。この洗浄工程(Ⅶ)では、十六方切換弁21を、ポート30p→30q→30rの順に切換えて行な。操作内容は洗浄

工程(Ⅲ)と同じである。次いで、原料中の水分を減圧共沸脱水する。この脱水工程(Ⅷ)では、十六方コック29を全閉にする。そして、十六方切換弁21をポート30hに切換えて、真空ポンプ35を動作させる。これにより、反応器20, 20内が減圧されて、原料から溶剤Ⅱ中に溶解した水分が共沸脱水される。脱水が終了したら、ポート30hに切換えてN₂ガスを充填する。この後、給液停止部30rに切換え、六方コック29をF E E Dにする。

この後、縮合する。この縮合工程(Ⅷ)では、反応器20, 20の上部から縮合剤/溶剤Ⅱ溶液を注入し、シェカー46を動作し、またヒータ(図示せず)により反応器20, 20を加温する。縮合反応終了後、シェカー46、ヒータの動作を停止する。そして、六方コック29をBLOWにし、十六方切換弁21を、ポート30hで30rに切換えて排液する。排液完了後に六方コック29をF E E Dにする。

次いで、溶剤Ⅱで洗浄する。この洗浄工程(Ⅸ)では、十六方切換弁21を、ポート30i→30

20

工程(Ⅲ)と同じである。

なお、洗浄工程(Ⅸ)、(Ⅹ)は必要により複数回繰り返してもよい。

上述の工程(Ⅰ)、(Ⅱ)、(Ⅲ)、(Ⅳ)、(Ⅴ)、(Ⅵ)、(Ⅶ)は必要により複数回繰り返すが、このとき六方コック29のみを操作して行なうようにしてもよい。例えば、工程(Ⅲ)を繰り返す場合、ポート30cに合わせたままで、六方コック29をF E E D→BLOW→F E E D→BLOWの順に切換え操作する。これにより、操作回数を削減することが可能となる。

このように工程(Ⅰ)～(Ⅹ)を繰り返すことにより、ヌクレオチド鎖を順次縮合する。

本実施例では、第1図に示す二方コック12、や反応器16, 16のコック16a, 16aを十六方切換弁21、六方コック29で兼用しているため、弁操作回数を減らすことができる。

例えば、溶剤Ⅱで洗浄する場合、第1図に示す装置では、①八方切換弁10のポートを10gに切換える、②二方コック12を閉→開→閉操作す

21

22

る、③ポートを10aに切換える、④二方コック12を閉→開→閉操作する、⑤八方コック15をFEED→BLOWにする、⑥コック16aを閉→開→閉操作する、⑦八方コック15をBLOW→FEEDにする。

これに対し、本実施例では、前述の如く、①十六方切換弁21のポートを30e→30f→30rの順に切換える、②六方コック29をFEED→BLOWにする、③ポートを30f→30rに切換える、④六方コック29をBLOW→FEEDにする。

すなわち、本実施例では、弁操作回数を3回減らすことができる。

第9図は、十六方切換弁21の他の実施例を示している。同実施例では、回転部31をスプリング52の弾力に抗して同図に示す矢印B方向に押圧して、縦溝31bをポート30a～30pに合わせたときのみ、これらポート30a～30pが共通ポート30qと連通する。すなわち、回転部31を押圧している間、試薬、溶剤、N₂ガ

スを反応器20、20に供給することができる。

なお、第9図中53は、回転部31の回転を円滑にするベアリングである。

第10図は六方コック29の代わりに二連二方コック54を使用した場合を示している。この二連二方コック54では、ポート54a、54bが流路43b、43bを介して反応器20、20の底部に接続され、またポート54c、54dが流路43c、43cを介して廃液タンク44、44に接続されている。同図の実線状態ではFEED、点線状態ではBLOWになっている。

同実施例によれば、前述の実施例よりも更に弁操作回数を減らすことができる。例えば、溶剤IIで洗浄する場合、①十六方切換弁21のポートを30e→30f→30rの順で切換える、②二連二方コック54をFEED→BLOW→FEEDにする。すなわち、弁操作回数を前述の実施例よりも2回減らすことができ、第1図に示す装置の場合とでは5回減らすことができる。このため、合成操作時間を短縮することができる。なお、こ

23

の実施例では、反応器20、20内に液が半分位い送り込まれど内圧が1kg/cm²となり、液を送り込むためのN₂ガスの圧力とほぼ等しくなるので、いちいち給液停止部30rに切換えなくても、内圧により給液が自動的に停止し、弁操作回数を更に減らすことが可能となる。

上述の二連二方コック54は、第11図a、bに示すように、本体60と回転部61とクリック機構部62とから構成されている。本体60には前述のポート54a～54dが形成され、また回転部61の周面にはこれらポート54a～54dを連通する溝61a、61bが形成されている。

なお、前述の十六方切換弁21は、第12図a、bに示すように構成してもよい。この場合、弁本体30の端面中央部に共通ポート30qが形成されていると共に、これを囲むように試薬、溶剤ポート30a、30c…が形成され、また弁本体30の周面にガスポート30b、30d…が放射状に形成されている。回転部31には、共通ポート30qとポート30a～30pとを連通する連通

24

溝31cがその端面から周面にかけて形成されている。

第13図は十六方切換弁21の代わりに2個の八方切換弁63、64を使用した場合を示している。一方の八方切換弁63には前述のポート30a～30pのうち前半のポート30a～30hが給液操作順に配置され、また他方の八方切換弁64には後半のポート30i～30pが同じく給液操作順に配置されている。また、これら八方切換弁63、64にはそれぞれ共通ポート30qが配置されている。

この実施例では、一方の八方切換弁63の切換操作により前述の構成(I)～(V)を行なった後、他方の八方切換弁64の切換操作により工程(W)～(X)を行なう。

このように、ポート30a～30pを二つの八方切換弁63、64に分けて配置することにより、各ポート30a～30p間の間隔を広げることができてシール性を確保することが容易で、弁の信頼性を向上させることができる。

第14図a、bはこれら八方切換弁63、64を

25

26

示している。基本的な構成は第12図a, bに示す十六方切換弁21と同じであるが、ポート30a~30p間の間隔が広くなっている。

第15図は大方コック29の代わりに八方コック6を使用し、N₂ガスでバブリングできるようにした場合を示している。同図によると、八方コック65のポート65g, 65hには流路34eから分岐した分岐流路66が接続されていて、この分岐流路66にはバブリングに必要な量のN₂ガスを流すオリフィス67が設けられている。なお、ポート65a~65fは大方コック29の場合と同様にして反応器20, 20廃液タンク4i, 4jに接続される。

この実施例によると、八方コック65をFEBDにしたとき(実線状態)、オリフィス67を通った少量のN₂ガスが反応器20, 20の底部から吹き込まれてバブリングが行なわれる。したがって、シユカー46を省略することができる。

なお、分岐流路66にプッシュバルブを設けて、このプッシュバルブを押圧している間バブリングするようにしてもよい。

27

た、キャッピング工程(W)の後に、反応器20, 20内に残っている不活性化助剤を除去するために溶剤IIで洗浄を行なう洗浄工程(X)を設けているが、この洗浄工程(X)のすぐ後に溶剤Iで洗浄を行なう洗浄工程(Y)を設けているので、洗浄工程(X)を省略しても洗浄工程(Y)で不活性化剤、不活性化助剤を溶解除去することができる。

第18図a, bは上述の十二方切換弁70を示している。基本的な構成は第12図a, bに示す十六方切換弁21と同じであるが、ポート30a~30pの間隔がポート30c, 30d, 30m, 30nを省略した分だけ広くなっており、ポート30a~30pのシール性を確保することが容易で、弁の信頼性を向上させることができる。

上記実施例では、いずれも反応器20を二本装備した場合を示したが、これに限定されず、一本あるいは三本以上装備してもよい。反応器20を一本あるいは三本以上装備した場合には、大方コック29、八方コック65の構成が異なってくる。

また、原料をコック58を開いて反応器20に注

第16図は上述の八方コック65を示している。同図によると、本体68に上述のポート65a~65hが放射状に配置されていて、その中心部に回転部69が回転可能に設けられている。そして、この回転部69の周面にポート65a~65hを互いに連通する周溝69a~69dが形成されている。

第17図は前述の十六方切換弁21の代わりに十二方切換弁70を使用した場合を示している。

この実施例では、前述のポート30c, 30d, 30m, 30nを省略している。この理由は、脱トリチル工程で使用する不活性化剤、不活性化助剤がそれぞれ溶剤Iと溶剤IIに溶解するためである。すなわち、前述の実施例では、脱トリチル工程(I)の後に、反応器20, 20内に残っている脱保護剤(脱トリチル剤)を除去するために溶剤Iで洗浄を行なう洗浄工程(II)を設けているが、この洗浄工程(II)のすぐ後に溶剤IIで洗浄を行なう洗浄工程(III)を設けているので、洗浄工程(II)を省略しても洗浄工程(III)で脱保護剤を溶解除去することができる。ま

28

入するようにした場合を示したが、例えば原料を溶剤で溶解した原料溶液をビンに充填して、これをN₂ガスの圧力により反応器20に送り込むようにしてもよい。

本発明の合成装置は上述のようにDNAを合成する場合に限定されず、RNA(リボ核酸)の合成にも使用できる。

以上説明したように本発明によれば、各試薬ビン、溶剤ビンと反応器とを接続する流路を一個の操作ツマミを回転操作することにより切換える切換弁の入口側の試薬、溶剤ポートを給液操作順に配置して、操作ツマミを一回転させたとき一つの縮合工程における給液操作が完了するように構成したので、弁操作が非常に簡単となり、誤操作を少なくすることができる。

また、自動化に際しては、多数の電磁弁を使用しなくてもすみ、例えばステッピングモータ、サーボモータを切換弁に連結するだけでよく、その制御も簡単であり、自動化への移行が容易である。

4. 四面の簡単な説明

29

30

第1図は従来の装置のフローシート、第2図は本発明の一実施例を示す総体斜視図、第3図は同フローシート、第4図は第3図のフローシートの要部の拡大図、第5図a、bは十六方切換弁21の断面図、第6図a、bは六方コック29の断面図、第7図は反応器20の断面図、第8図は上柱体56の断面図、第9図は十六方切換弁21の他の実施例を示す断面図、第10図は六方コック29の代わりに二連二方コック54を使用した他の実施例を示すフローシート、第11図aは二連二方コック54の断面図、同図bは同平面図、第12図aは十六方切換弁21の他の実施例を示す断面図、同図bは同平面図、第13図は十六方切換弁21の代わりに八方切換弁を二個使用した他の実施例を示すフローシート、第14図aは同実施例に使用する八方切換弁の断面図、同図bは同平面図、第15図はN₂ガスでバブリングができるようにした他の実施例を示すフローシート、第16図は同実施例に使用する八方コックの断面図、第17図は給液操作を二つ省略した他の実施例に使用する十二方切換弁の略解図、第18図aは同十二

方切換弁の平面図、同図bは同断面図である。

- 20…反応器
- 23, 24…試験ピン
- 25, 26…溶剤ピン
- 21, 63, 64…切換弁
- 30a, 30c…試薬、溶剤ポート
- 30b, 30d…ガスポート
- 30r…給液停止部
- 27…真空ポンプ
- 28…ディストリビュータ
- 22…操作ツマミ

給液手段

特許出願人

日本ゼオン株式会社

代理人

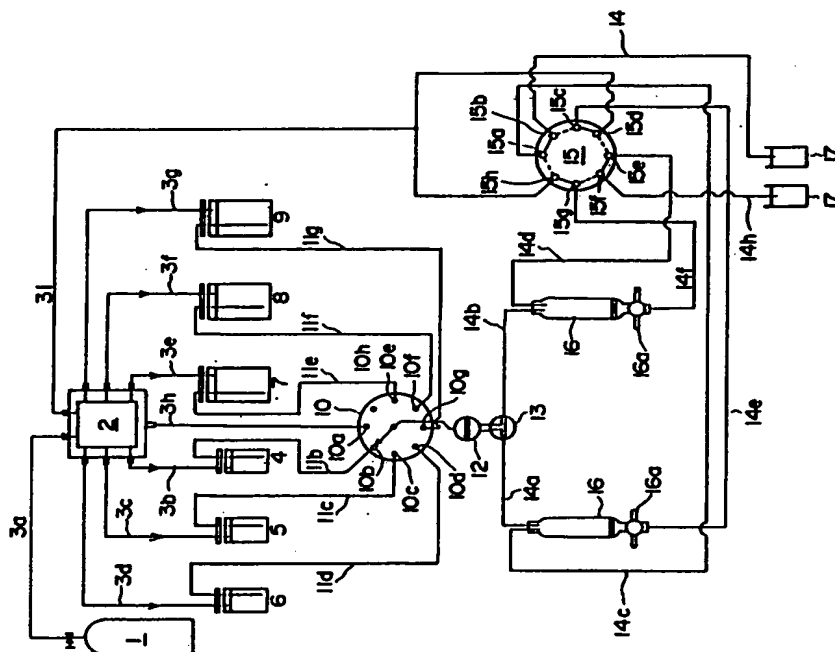
瀧野 秀雄

同

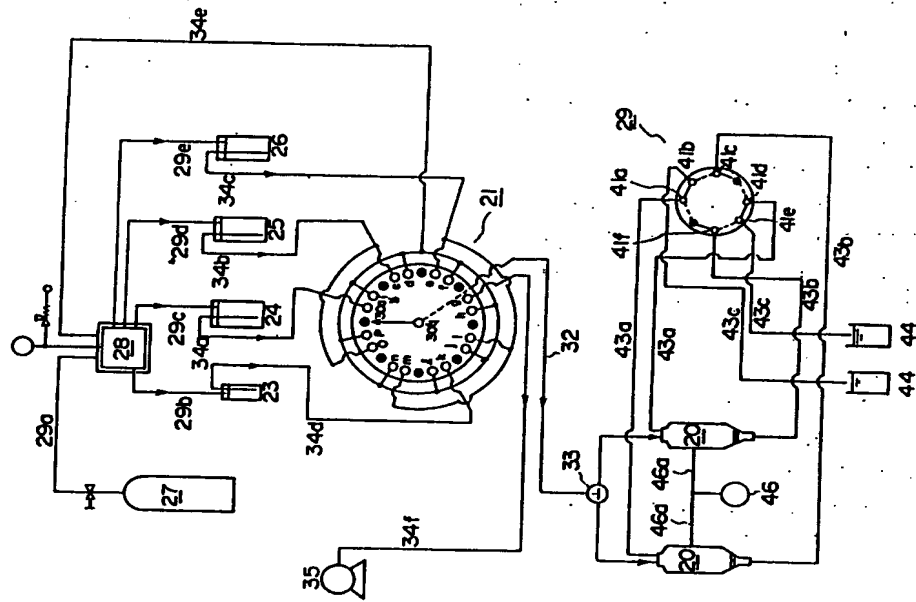
池尾 勝巳



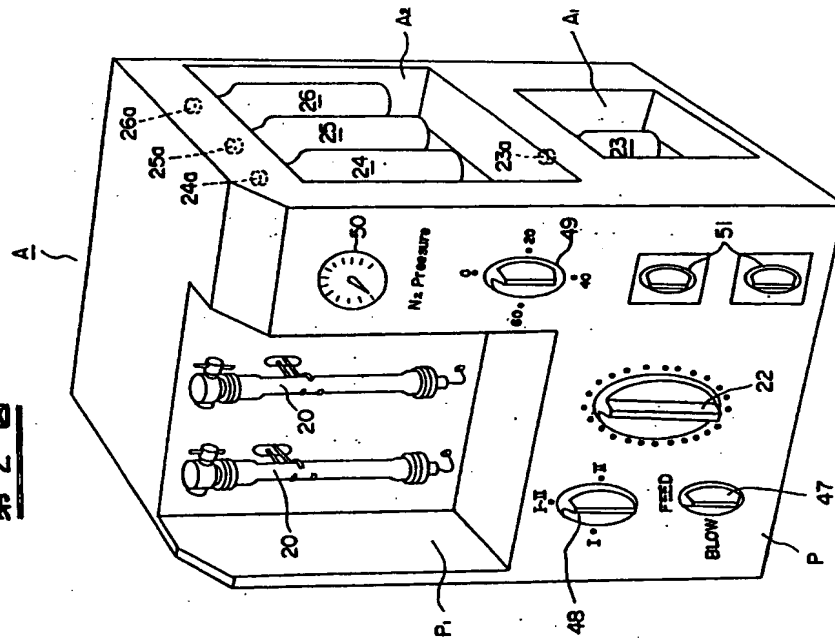
第一図



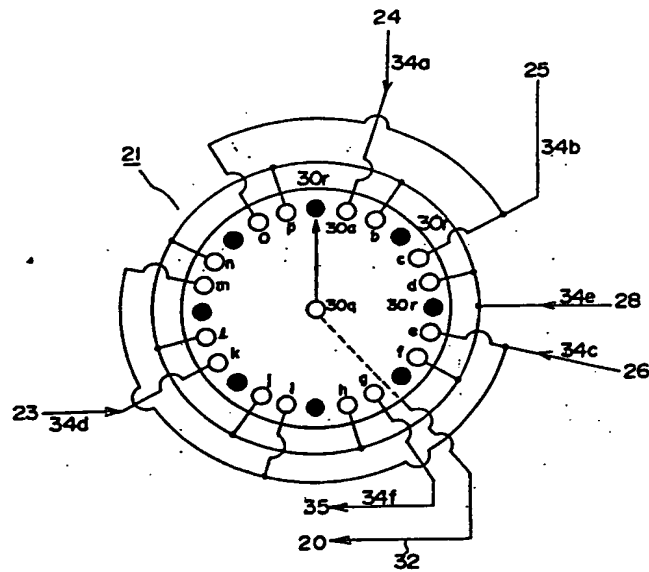
第 3 図



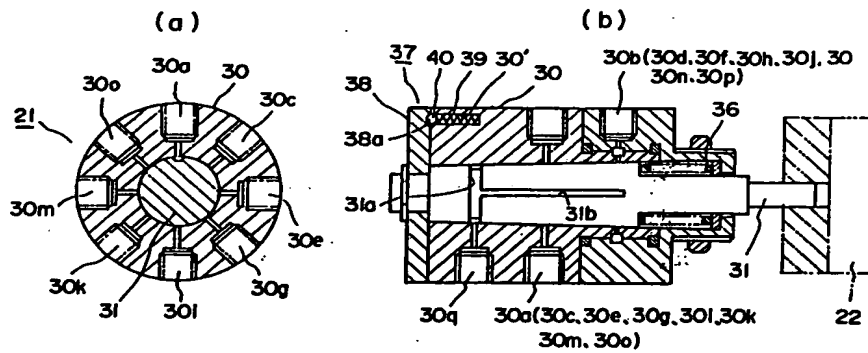
第 2 図



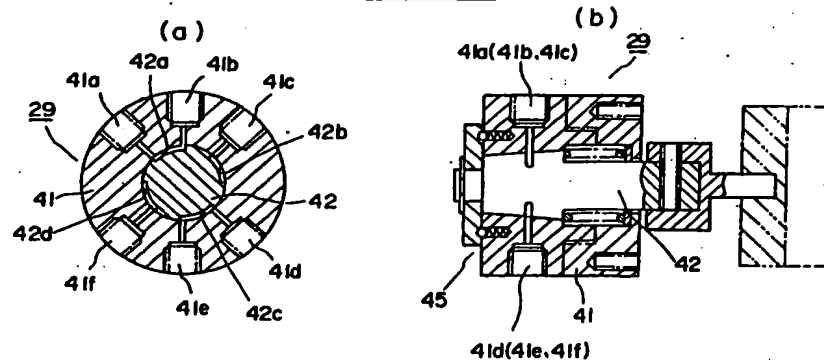
第 4 図



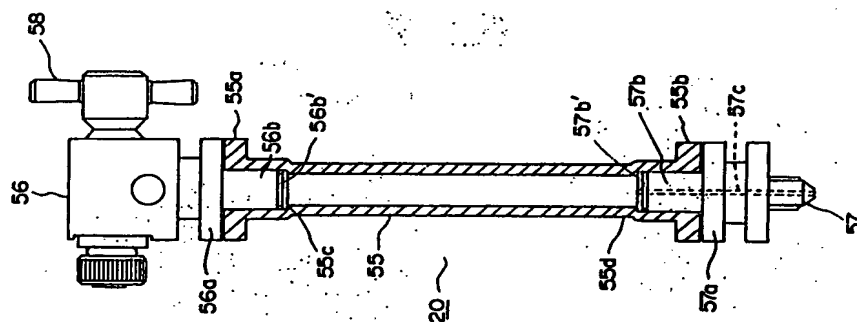
第 5 図



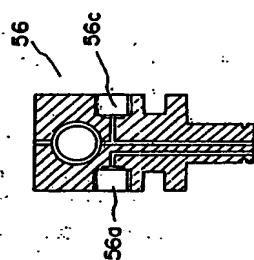
第 6 図



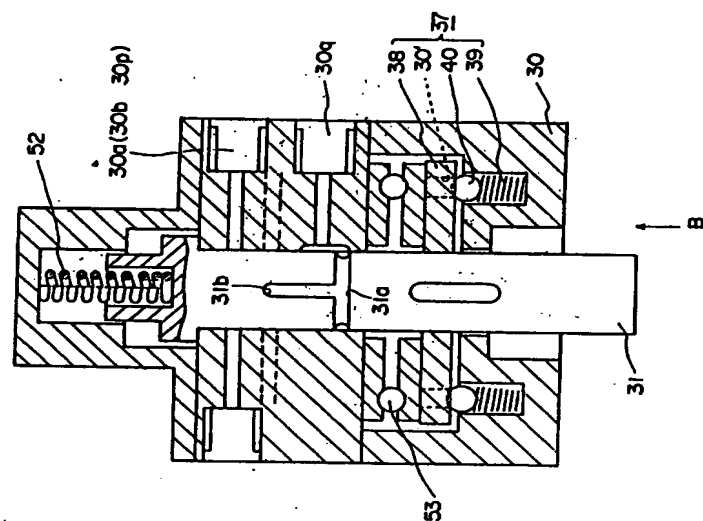
第 7 図



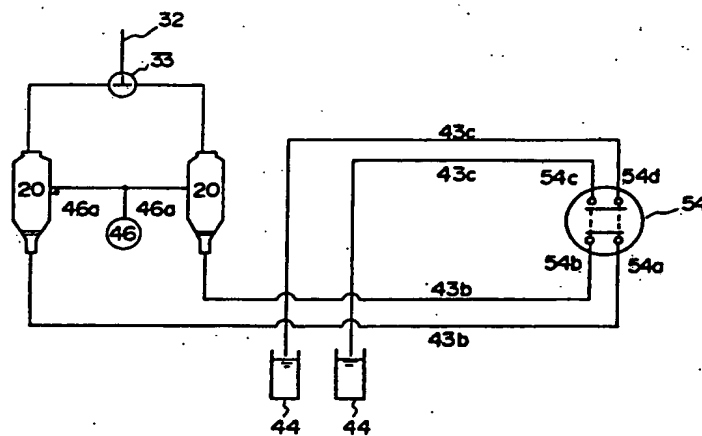
第 8 図



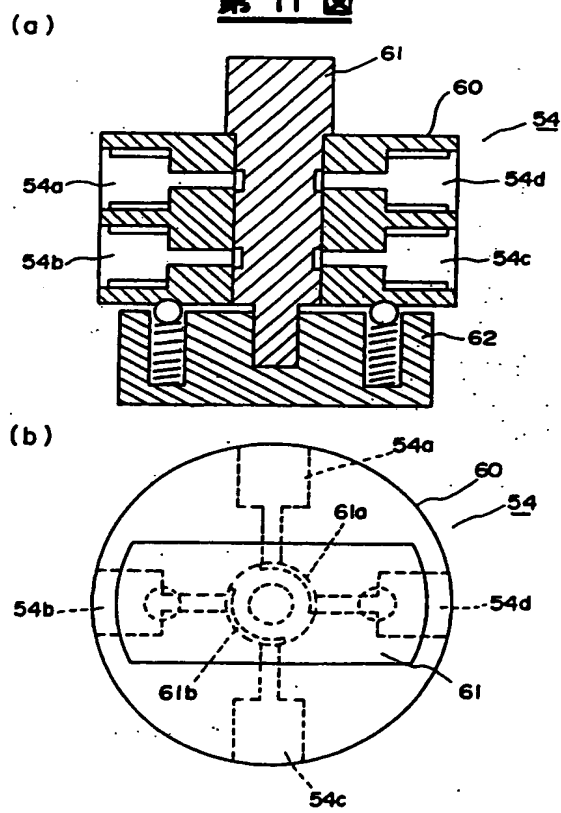
第 9 図

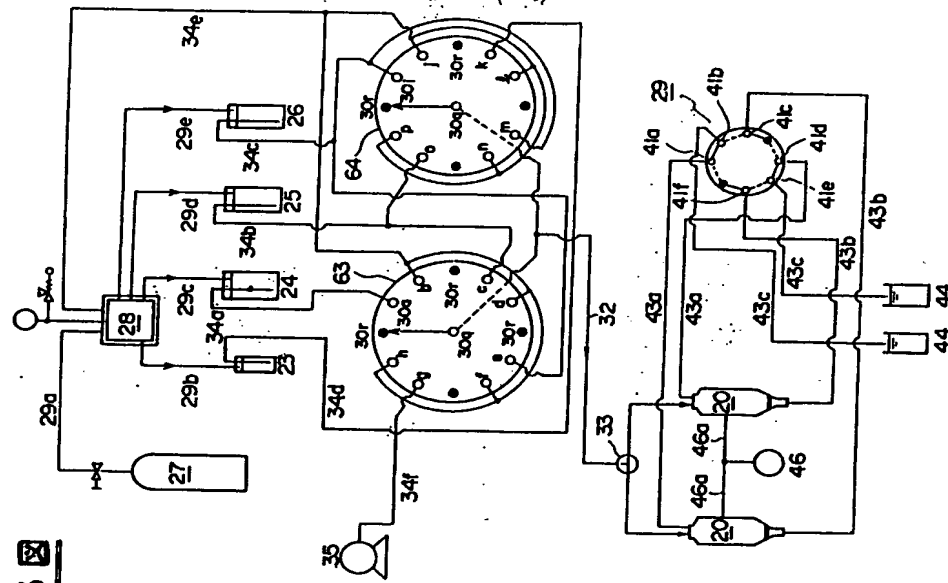


第 10 図

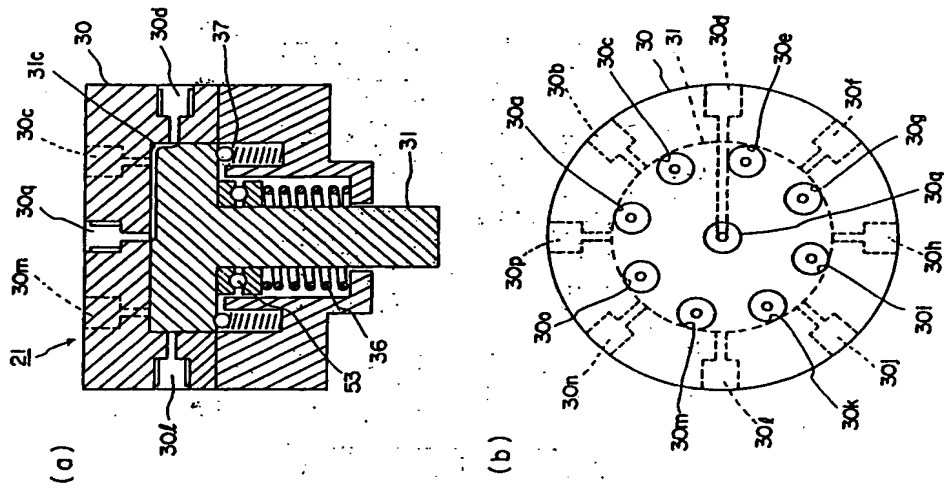


第三圖



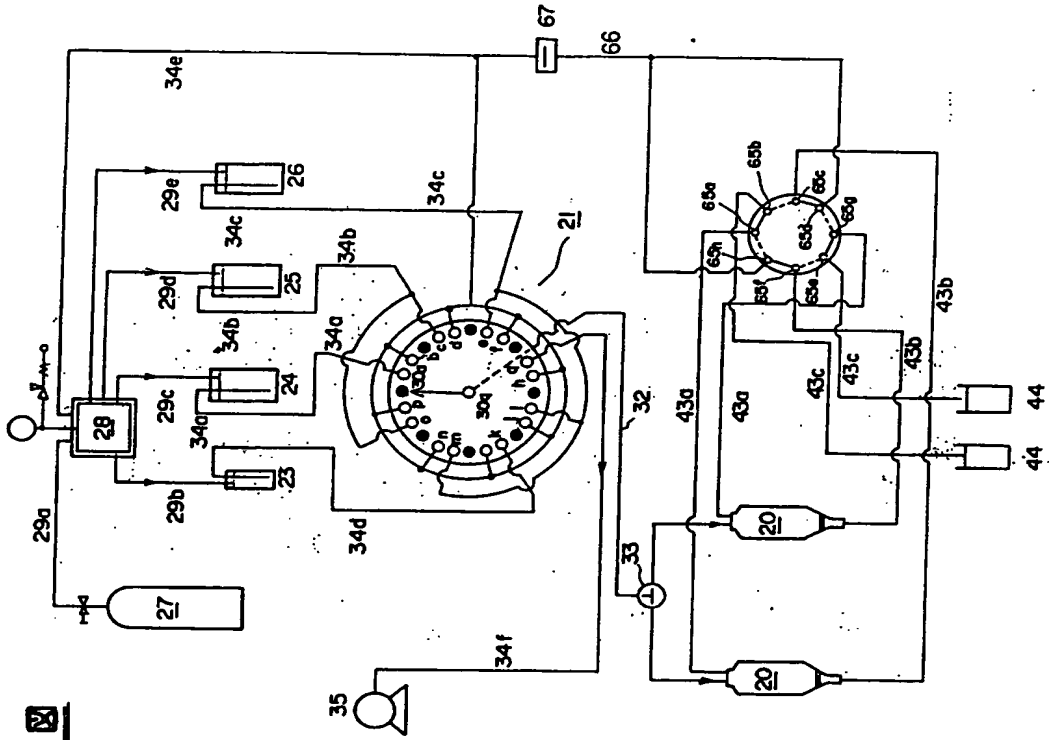


第13図

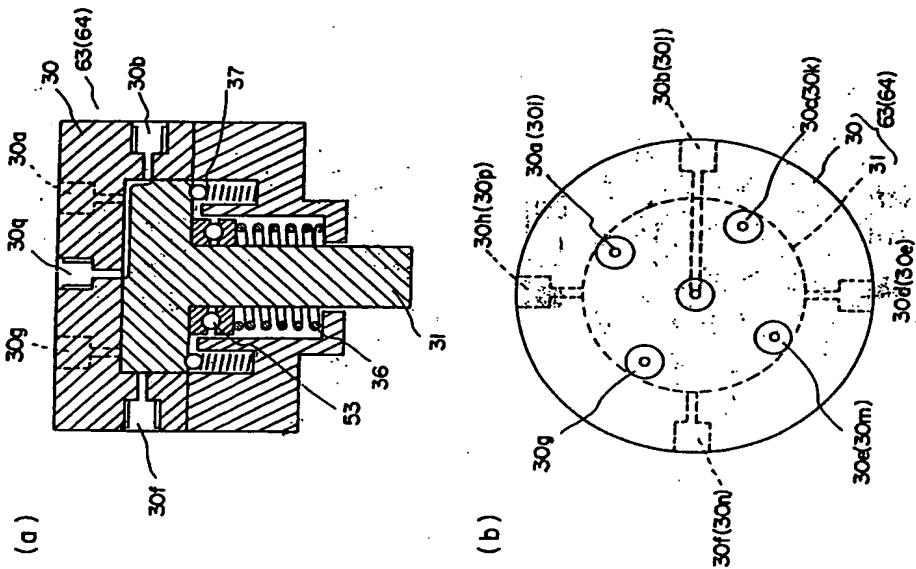


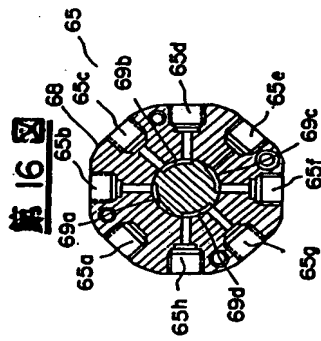
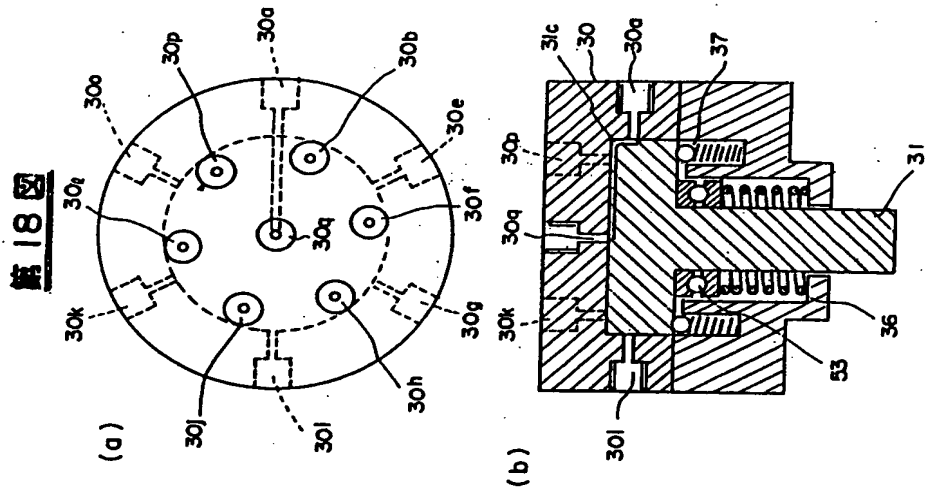
第12図

第15図

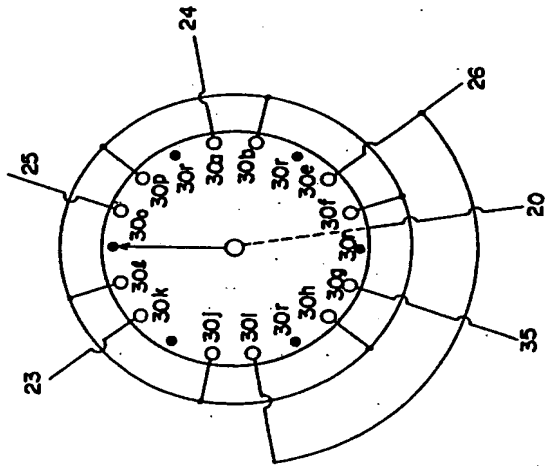


第14図





第17図



手 続 補 正 書 (自発)

昭和 58 年 10 月 13 日

特許庁長官 若 杉 和 央 殿

1. 事件の表示 昭和 58 年 特 許 願 第 1 6 1 8 3 7 号

2. 発明の名称

ポリスクレオチド合成装置

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住 所 東京都千代田区丸の内 2 丁目 8 番 1 号

名 称 日本ゼオン株式会社

4. 代 理 人

住 所 東京都千代田区内幸町 2-1-1 (飯野ビル) 〒100

電話東京 (562) 3171 (代保)

氏 名 (6069) 弁理士 飯 野 秀 雄 他 1 名

5. 補正命令の日付 昭和 年 月 日

6. 補正により増加する発明の数

7. 補 正 の 対 象

明細書の「特許請求の範囲」及び「発明の詳細な説明」の欄

8. 補 正 の 内 容 別紙のとおり

個の操作ツマミ」を「操作ツマミ」と補正する。

補正の内容 (特願昭 58 - 1 6 1 8 3 7 号)

1. 特許請求の範囲を下記の通り補正する。

記

反応器と、ポリスクレオチド合成反応に必要な試薬、溶剤等が充填された試薬ビン、溶剤ビンと、入口側に該試薬ビン、溶剤ビンと接続される複数の試薬、溶剤ポートを有し、出口側に該反応器に接続される共通ポートを有して、各試薬ビン、溶剤ビンと反応器とを接続する流路を操作ツマミを回転操作することにより切換える切換弁と、不活性ガスの圧力により各試薬ビン、溶剤ビンから試薬、溶剤等を反応器に送り込む給液手段とを具備し、かつ前記試薬、溶剤ポートを給液操作順に配置して、前記操作ツマミを一回転させたとき一つの組合工程における給液操作が完了するように構成してなることを特徴とするポリスクレオチド合成装置。

2. 明細書第 5 頁第 6 行目記載の「装置ツマミ」を「操作ツマミ」と補正する。

3. 同第 30 頁第 9 行乃至同頁第 10 行目記載の「一

1

特許出願人 日本ゼオン株式会社

代 理 人 飯 野 秀 雄 他 1 名

THIS PAGE BLANK (USPTO)